

УТВЕРЖДАЮ



Директор по науке Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева

Д.хим.н., доцент А.А.ЩЕРБИНА

14 » ноября 2019 г.

ОТЗЫВ

Ведущей организации на диссертационную работу Генераловой Аллы Николаевны «Мультифункциональные полимерсодержащие дисперсные микро- и наноструктуры для биотехнологии и медицины», представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе нанобиотехнологии)

Реакция латексной агглютинации с использованием дисперсий полимерных частиц стало отправной точкой их широкого применения в биотехнологии. Несмотря продолжительный срок исследований, проводимых с участием частиц, интерес к ним только возрастает, что связано с возможностью получения частиц с новыми, особыми свойствами благодаря значительным научным достижениям в области высокомолекулярных соединений. С другой стороны, большой интерес исследователей привлекают неорганические наночастицы, что обусловлено появлением уникальных физико-химических свойств материалов при переходе на наноуровень. Эти свойства во многом определяются существенным преобладанием поверхностных атомов над атомами в объеме, что связано с высокоразвитой поверхностью наночастиц.

Важным свойством, объединяющим микро- и наночастицы, является возможность значительно повысить эффективность биоанализа, т.к. частицы позволяют проводить исследования быстро, с высокой чувствительностью,

селективностью, воспроизводимостью, используя минимальные объемы анализируемых образцов. Кроме того, дальнейшее развитие бионанотехнологии связано с созданием мультифункциональных структурированных систем, обладающих набором особых свойств, которые не могут быть получены у индивидуальных частиц. Структурирование преимущественно базируется на подходе супрамолекулярной химии «снизу-вверх» (англ. bottom-up), при котором мультифункциональные системы получают из частиц-прекурсоров путем их объединения с биологически активными молекулами, функциональными полимерами, а также за счет сочетания частиц органической и неорганической природы.

Такие системы лежат в основе создания новых биоаналитических, диагностических, тераностических методов и позволяют решать задачи биовизуализации, доставки лекарственных препаратов, регенеративной медицины. Исходя из этого можно считать, что докторская диссертационная работа Генераловой А.Н., посвященная получению и применению мультифункциональных дисперсных микро и наноструктур для решения задач биотехнологии и биомедицины является вполне **актуальной**.

Диссертационная работа изложена на 247 страницах, содержит 77 рисунков, 17 таблиц и имеет классическое построение – она состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, представления и обсуждения основных результатов, выводов и списка литературы (417 наименований).

В обзоре литературы рассмотрены два перспективных направления создания дисперсных структур: на основе полимерных частиц, синтезированных методом гетерофазной полимеризации, и на основе неорганических наночастиц. Обзор подготовлен с использованием значительного числа публикаций, включая исследования последних лет.

Первое направление представлено в первой части обзора, где продемонстрированы способы получения дисперсий полимерных частиц

методом гетерофазной полимеризации, управление их диаметрами и распределением по размерам, коллоидной стабильностью, свойствами поверхности, в том числе функциональностью, а также рассмотрены подходы к формированию гибридных органо-неорганических частиц. Приведены примеры биоанализов, основанных на участии дисперсных микроструктур с биомолекулами.

Вторая часть обзора литературы посвящена описанию основных свойств, синтезу, модификации и применению полупроводниковых нанокристаллов, так называемых квантовых точек (КТ), цвет флуоресценции которых зависит не столько от химического состава, сколько от размера наночастиц при возбуждении источником света с одной длиной волны. В обзоре также представлены и описаны по той же схеме (основные свойства, синтез, модификация и применение) апконвертирующие нанофосфоры.

Такие наночастицы флуоресцируют при облучении спектрально-выгодным источником света из ближнего ИК-диапазона, который попадает в «окно прозрачности» биологической ткани, что обеспечивает глубокое проникновение излучения с минимальным поглощением и рассеянием, а также позволяет регистрировать сигнал, четко отличая его от автофлуоресценции биоткани. Эти свойства определяют перспективность использования нанофосфоров для решения актуальных задач биовизуализации и тераностики.

Во второй главе автор приводит характеристики исходных веществ, применяемых в работе, и описывает методы получения продуктов и исследование их свойств с использованием современных методов анализа, что позволяет считать полученные диссертантом данные вполне **корректными**.

В третьей главе изложены результаты работы и их обсуждение и рассмотрены основные концепции и подходы к получению и применению как микроструктур на основе частиц, синтезированных методом гетерофазной

полимеризации (первый раздел), так и наноструктур, полученных на основе неорганических частиц – нанофосфоров (второй раздел).

В первом разделе рассмотрен простой универсальный подход к получению микрочастиц в диапазоне диаметров 0.15-2 мкм осадительной полимеризацией акролеина и его сополимеризацией со стиролом, который автору удалось применить для получения широкого круга микрочастиц с удивительно широким функциональным диапазоном. Прежде всего, следует отметить удачно выбранный основной мономер - акролеин, поскольку полимеры и сополимеры на его основе содержат реакционноспособные альдегидные группы, а при использовании предложенных методов синтеза существует возможность управления коллоидными и химическими свойствами частиц путем введения красителей, аминов, неорганических наночастиц, проведением реакции сшивки.

Кроме того, применение различных методов модификации, основанных на последних достижениях в области полиэлектролитов, стимул-чувствительных полимеров, неорганических наночастиц позволило разработать концепцию получения микроструктур с набором специальных свойств, необходимых для их применения в биотехнологии и биомедицине. Так, на основе частиц с органическими метками созданы микроструктуры при участии биофункциональных соединений для проведения анализов в различных форматах реакции латексной агглютинации с визуальной и инструментальной детекцией результатов, проиллюстрированных примерами определения гербицида 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты. Показана перспективность применения конъюгатов гибридных органо-неорганических микроструктур, содержащих квантовые точки, с адресными молекулами для специфического маркирования поверхности клеток. Формирование гибридных микроструктур путем включения квантовых точек в стимул-чувствительные полимерные покрытия на поверхности частиц дало возможность получить микроструктуры с термо- и pH-чувствительной

флуоресценцией, на основе которых сконструированы оптические биосенсоры.

Во втором разделе представлена концепция создания наноструктур на основе гидрофильных коллоидно-стабильных дисперсий апконвертирующих нанофосфоров, полученных при использовании метода замены растворителя. Эффективность данного метода подтверждена в работе формированием полимерного покрытия, которое обеспечивает функциональность, низкую токсичность и предохраняет флуоресцентную матрицу от воздействия окружающей среды при сохранении фотофизических свойств апконвертирующих наночастиц. Продемонстрировано применение наноструктур в виде биофункционализированных реагентов НАФ для таргетной визуализации клеточных рецепторов на культурах клеток *in vitro*, пассивной доставки в солидные раковые опухоли лабораторных животных *in vivo*. Безусловно интересным представляется получение наноструктур апконвертирующих систем с эндогенным фотосенсибилизатором, в качестве которого выступает витамин В2, рибофлавин. Данные наноструктуры являются перспективными тераностическими агентами и позволяют проводить фотодинамическую терапию раковых опухолей за счет генерации активных форм кислорода при возбуждении ИК-светом.

В целом диссертация А.Н.Генераловой производит положительное впечатление. В то же время по ней следует сделать следующие замечания.

1. При получении микрочастиц с термочувствительной флуоресценцией в работе использована затравочная полимеризация N-винилкапролактама в присутствии частиц на основе сополимера акролеина со стиролом. Из представленных данных не совсем ясно, как контролировали процесс полимеризации, чтобы избежать формирования новой фракции частиц из поли-N-винилкапролактама в объеме.

2. Из литературы известно, что для получения частиц на основе полиэтиленгликоля (ПЭГ), характеризующихся продолжительным временем

циркуляции в организме лабораторных животных, обычно используют ПЭГ с молекулярной массой 2-5 кДа. В работе нанофосфоры модифицировали ПЭГ с молекулярной массой 0,5 кДа. Представляется целесообразным объяснить такой выбор.

3. В работе имеются отдельные опечатки и грамматические ошибки.

Сделанные замечания являются не принципиальными и не снижают, в целом, благоприятного впечатления от работы.

Междисциплинарный характер исследований и широта охвата биомедицинских приложений микро- и наночастиц позволяют считать, что в диссертационной работе представлено развитие перспективного научного направления по созданию набора дисперсных структур, обладающих комплексом специальных свойств, весьма актуальных для использования в биотехнологии и биомедицине. Новизна и актуальность представленных в работе данных не вызывает сомнений. Основные результаты диссертации в полной мере были опубликованы в печати (49 статей в рецензируемых журналах) и представлены на российских и международных научных форумах. Автореферат диссертации соответствует содержанию работы.

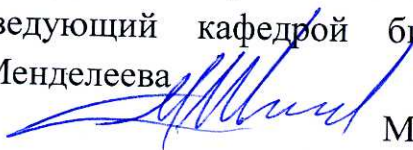
Несомненна и практическая значимость проведенной работы. Разработанные автором мультифункциональные микро- и наноструктуры целесообразно использовать в научно-исследовательских институтах медицинского, медико-биологического и биотехнологического назначения, в центрах иммунодиагностики, на предприятиях системы санитарно-эпидемиологического надзора и экологического контроля.

На основании вышеизложенного можно заключить, что докторская диссертация Генераловой Аллы Николаевны соответствует критериям, установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), а сам диссертант несомненно заслуживает

присвоения искомой степени доктора химических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Отзыв на диссертационную работу обсужден на заседании кафедры биоматериалов ФГБУ ВО «Российский химико-технологический университет имени Д.И.Менделеева» (Протокол №3 от 03.11.2019).

Отзыв подготовил доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой биоматериалов РХТУ им. Д.И.Менделеева



М.И.Штильман

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И.Менделеева

Адрес: 125047 г.Москва, Миусская пл.9.

Тел.: (499) 978-86-60, Эл.почта: shtilmanm@yandex.ru

Подпись профессора М.И.Штильмана удостоверяю
Ученый секретарь РХТУ им.Д.И.Менделеева,
канд.техн.наук, доцент



Н.К.Калинина